

黄熱蚊 *Aedes aegypti* の日本における土着 の可能性に関する研究

1. 雌成虫の受精, 吸血及び産卵, 卵の耐乾性, 及び幼虫の発育について*

長崎大学医学部医動物学教室 (主任: 大森南三郎教授)

大
おお

藤
ふじ

芳
かおる

Possibility of Establishment of Yellow Fever Mosquito, *Aedes aegypti* (L.) in Japan. I. On the fertility, feeding and oviposition of the female, the hatching out of the egg, and the development of the larva. Kaoru OORI. Department of Medical Zoology, Nagasaki University School of Medicine (Director: Prof. N. OMORI).

緒 言

パナマ運河の開鑿当時, 東洋におけるネツタイシマカ *Aedes aegypti* の分布調査が広く行なわれたが, 我が国では山田 (1916) の広汎な調査によって本種は小笠原及び沖縄本島には発見されたが, 日本本土には棲息しないことが明らかにされた。

ところが1944年9月に熊本県天草郡牛深町にデング熱の大流行があり, これを調査した熊本大学の小栗・小林 (1947, 1948) は, こゝにネツタイシマカが発生していることを発見した。同氏等は1944~1947年の間に, 三浦等は1947年 (佐々・浅沼, 1948) に, 正垣は1949年 (山口・La Casse, 1950) に調査を行なって, 本種が採集されたことを報告している。

牛深での本種の存在を最後に確認したのは当教室の別宮 (未発表) で, 1952年10月に牛深町内で3カ所の防火用水槽から本種の幼虫を採集している。

その後別宮は1955年10月に再び採集を試みたが発見できなかった。1957, 1958年には大森等 (未発表) によって牛深及びその附近の徹底的な調査が数回に亘って行なわれたが終に本種の存在は認め得なかった。従って別宮が採集した頃を最後に絶滅したものと思われる。

以上のように, 天草では, 初めて発見された1944年から別宮が最後に確認した1952年迄の8年間土着して

いた事は確かな事実である。

一方, これとは別に1942年9月に南方から長崎に入港していた船舶の上甲板の水溜りから本種の幼虫及び蛹を発見したことが山田・伊熊・大島 (1943) によって報告されている。

以上のような分布の事実を実験的に証明し, 且つ, 日本本土において土着するための可能条件を明らかにする目的で, 各発育期を通じて最も抵抗力が強いと考えられる卵について, 長崎地方の自然温度下での耐乾性及び耐寒性を調べ, 更に, 本種幼虫の発育零点を究明するための実験を計画した。本報告は, 本実験を行なう以前に或るいはそれと平行して行なった基礎実験, 即ち実験に必要な各発育期の材料を同時に大量に準備するための Mass rearing の方法, 成虫の交尾率, 受精率, 吸血及び産卵に関する観察, 卵の湿潤に保つ時間と耐乾性との関係等について行なった実験結果をまとめたものである。

本報告を出すに当って研究の指導と本稿の校閲を賜った恩師大森南三郎教授に深く感謝の意を表し, 実験上色々援助を受けた教室の伊藤寿美代博士に深謝する。

実験材料及び方法

実験材料

実験に用いたネツタイシマカは1957年12月佐々学博

*長崎大学風土病研究所業績 第442号

長崎大学医学部医動物学教室業績 第127号

士等がタイ国バンコック市内で採集したバンコック座の子孫で、1958年12月から当研究室で累代飼育を続けているものである。今回の諸実験には累代第23～34代の間のものを使用した。

飼育方法

累代飼育及び卵や幼虫を大量に生産するための 25°C での Mass rearing は次の方法によった。即ち、幼虫は、20×27cm、深さ 4cm の珽璃引きバットに 1 日汲置いた水 800cc、24 時間以内に孵化した幼虫 500～700 個体を入れ、餌としてエビオスを、500 個体に対して最初 500mg を与え、その後隔日に水を交換しながら 600, 700, 900mg と与えて行くと、大体において、各令期毎に 1 回ずつ餌を新しく与えることになり、8 日目に多くは蛹となる。当日蛹にならなかったものに対しては水の交換後その数に応じて餌を与えて行った。この方法によって非常に優れた飼育結果を得ているが、夏季 25°C 以上の高温時には温室が使用できないので実験室内の自然温度下で Mass rearing を行なった。この「25°C 以上の室温」飼育の場合には、幼虫の発育は旺盛となり、各令期間がかなり短縮するので 1 回の投与量を適当に増した。その結果 6 日目の水の交換時にはかなりのものが蛹化するのでその後は残存幼虫数に応じて餌を与えて飼育した。ここに云う「25°C 以上の室温」とは、5 月頃から 25°C、相対湿度 70～80% の温室内で飼育を始め平均室温が 25°C 以上となると、即ち夏季は、実験室内（相対湿度 60～80%）に移して飼育を続け、平均室温が 25°C 以下に低下する前に再び 25°C 温室内で飼育を続けた場合の飼育温度条件のことで、本報告で取り扱った多くの実験材料を生産した 1960 年の「25°C 以上の室温」は第 5 図に示した通りである。

蛹化した蛹は、幼虫の換水の都度別の容器に移し、28cm 立方の飼育籠内で約 600 前後の成虫を羽化させた。成虫を羽化させる場合には、必要に応じ同年令のものを、♀♂一緒に或いは別々に得られるよう予め準備し、大量の成虫を必要とする時は、この飼育単位を必要数だけ増した。飼育籠は底面が板、他はボイル布張りとし、1 側面に袖を付けたものである。

羽化成虫は脱脂綿に滲ませた 2% 砂糖水を隔日に追加又は交換しながら飼育し、羽化後 4 日目頃から、1 日に 1～1.5 時間宛 2 日間連続して、ビニールネット製の筒に固定したマウス 2 匹を籠内に吊り下げて吸血させた。この方法によって大部分の♀はほぼ十分に吸血する。一時に大量の卵を必要とする場合には、吸血 3 日後に上記の脱脂綿を取り除き、8.5cm 角の産卵用濾紙 2 枚を入れて、これを 12 時間毎に取り換えながら産卵させた。この濾紙は、径 7.5cm、深さ 1.3cm のシャーレに水を入れ、折り畳んだちり紙の枕を沈めてその上に載せ、たえず湿っているようにした。卵を乾燥して保存する場合には、一定時間湿潤させた上記の濾紙を空気中に吊して乾燥させ、卵産期日、保存条件等を記入してボール箱に入れ 25°C 以上の室温で保存した。この卵を必要に応じて水中に浸せば必要数の幼虫が得られる。通常累代飼育のみを行なう場合には♀♂の合計 600 前後を入れた籠を 2～3 籠用意すれば充分であるが、大量の卵又は幼虫を必要とする場合には 10～12 籠を同時に用意した。

実験成績

♀成虫の受精

♀の受精率と温度との関係をみるために 25, 18 及び 16°C の 3 温度区で、予め 25°C 内で ♀♂ 別々に羽化さ

Table 1 Fertility of the females at 25°C

Days after being paired	No. ♀ dissected	No. ♀ having spermatozoa in any of 3 spermathecae				% fertilized
		0/3	1/3	2/3	3/3	
1	10	1	0	7	2	90.0
2	10	0	0	9	1	100.0
3	15	0	0	12	3	100.0
4	15	0	0	9	6	100.0
Total	50	1	0	37	12	98.0

せたものを、夫々の温度に一定期間馴らした後に同棲させ、以後3個の受精囊中の精子の有無、多少を調べた。この実験は1961年12月上旬から1962年2月下旬の間に亘った。

25°Cでの実験成績は第1表に示す通りであるが、本実験では25°C(相対湿度50~68%)温室内で別々に羽化させた♀♂を夫々50個体宛1籠に放して交尾させ、以後毎日10~15個体の♀を剖検して受精囊を調べた。

表から明らかなように、受精率は1日後にすでに90%、2日後には100%に達し、上述の温湿度条件下で順調に交尾、受精が行なわれることが判る。受精の程度をみると、1日後には大多数の蚊で、2/3即ち3個中2個の受精囊に精子が満されているが、すでに全受精囊に精子が満されている(3/3)ものも少数認められる。4日後にも2/3受精♀の方が多く、3/3受精♀の数は日の経過と共に殖えて来ている。これらのことか

ら、1回の交尾では全受精囊に精子が満されることは比較的少なく、何回か交尾を繰り返して精子が追加されて行くものと考えられる。

次に、18°C及び16°Cでの♀♂の生存状態及び自然死♀の受精の有無を夫々第1、2図に示す。これらの実験は25°C温室内で性別に羽化させた成虫を、18°Cでの実験ではこの温度に接触させてから5日目に、又16°Cでの実験では18°Cに5日間接触させた後16°Cに移し、その後5日目に夫々♀50、♂60を同棲させ、以後毎日自然に死んで行く♀を剖検して受精の有無を調べた。

18°C(相対湿度50~72%)では♀は最長約2カ月(第1図)生存するが、同棲後5日目に死亡した1♀はすでに受精しており、交尾は同棲直後から行なわれたものと考えられるが、35日頃までに死亡した♀には受精したものが比較的少ない。しかし、それ以後は極めて多くなっており、第2表中に示した18°Cでの

Fig. 1 Survival number of adults kept at 18°C and fertility in naturally dead females

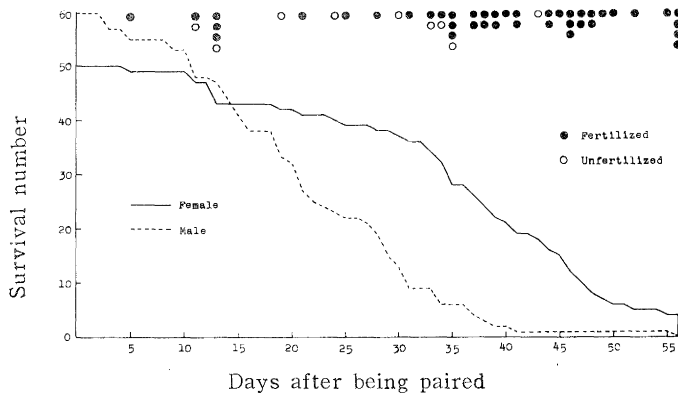
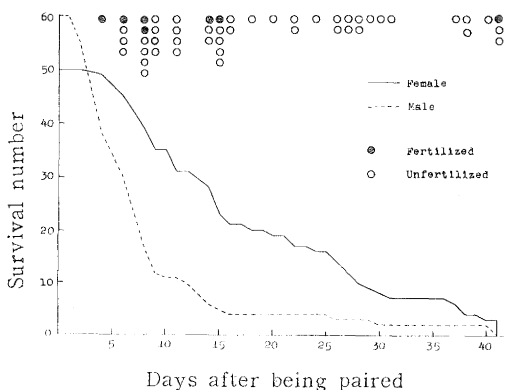


Fig. 2 Survival number of adults kept at 16°C and fertility in naturally dead females



3/3受精♀7個体はすべて39日以後に死亡したものであったことなどから、この温度に接触中も交尾は反復して行なわれるものと推察される。しかしこれら7♀の場合には何れも3個中1個の受精囊には極めて少量の精子しか認められなかったことは25°Cにおける場合とは明らかに異なる点である。

16°C(相対湿度70~84%)では第2図に示すように♀♂とも生存日数はかなり短く、特に早期に死亡するものが多い。同棲後4日目に死亡した1♀はすでに受精しており、この温度でも交尾及び受精が行なわれることが判る。しかし第2図から明らかなように受精♀は極めて少なく、而も時日の経過に伴ってこれが増加する傾向は全くみられない。

Table 2 Comparison of fertility of the females kept at 25, 18, and 16°C

Rearing temp. °C	No. sexes paired		No. ♀ dissected	No. ♀ having spermatozoa in any of 3 spermathecae				No. & % fertilized	
	♀	♂		0/3	1/3	2/3	3/3	No.	%
25	50	50	50	1	0	37	12	49	98.0
18	50	60	50	9	2	32	7	41	82.0
16	50	60	50	43	2	5	0	7	14.0

Fig. 3 Oviposition of females kept at 18°C

Females copulated at 25°C 2 days before were moved in a room at 18°C, where they were fed on mice 10 days after that and thereafter observed for their survival number and egg laying

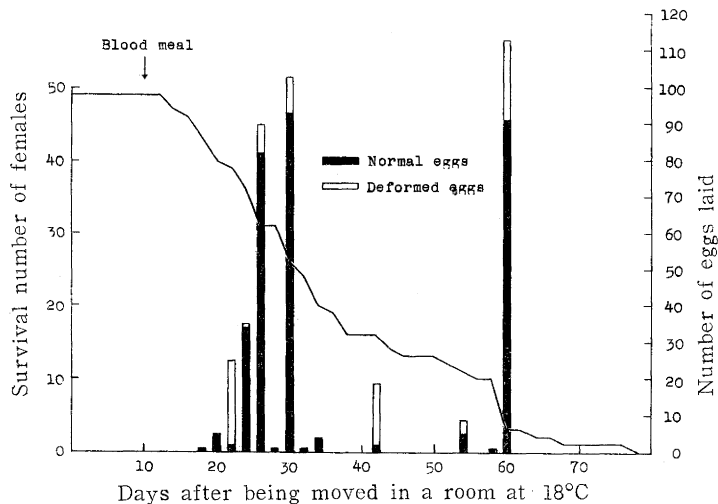
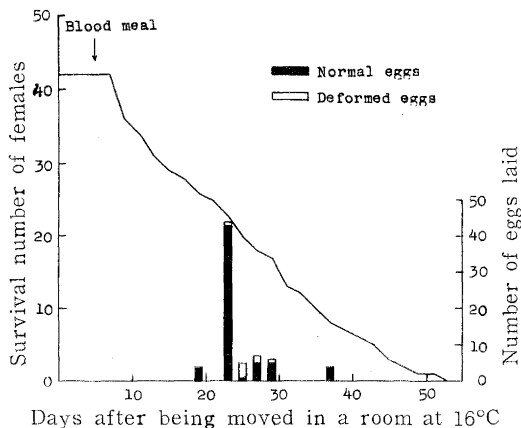


Fig. 4 Oviposition of females kept at 16°C
Females copulated at 25°C 2 days before were moved in a room at 18°C for 7 days and again moved in a room at 16°C, where they were fed on mice 5 days after that and thereafter observed for their survival number and egg laying



以上3温度区での成績を比較すると第2表に示すように受精率は25°Cで最も高く、18°Cでもかなりに高率であるが、16°Cでは極めて低い。受精の程度をみると、25°Cでは3/3受精個体が日数の経過に伴って増加する傾向が認められることを既に述べたが、同じ温度で行なった他の実験でも羽化後10日目位から総べて3/3に受精し、而も共に精子が充満していることを観察している。所が、18°Cでは3/3受精個体はその数が極めて少ないばかりでなく3個の中1個の受精囊の精子が極めて少ないことは上に述べた通りである。従ってこれら両温度区における受精状態は実質的にはかなり差があるといえることができる。

16°Cでは多くのものは受精されず、1/3又は2/3の受精個体が僅かにみられるのみであって、且つ受精囊中の精子も極めて少ない。これらの実験結果から交尾、受精の行なわれる有効臨界温度は18°C附近にあると考えられる。

本種の交尾に関して山田 (1916) は 20°C 以下の場合には受精♀の数が著しく減少すると述べているが、著者の成績では 18°C 未満の温度においてそれがみられる。

低温接触中の吸血と産卵

18°C 及び 16°C における吸血♀群の産卵状態を夫々第3及び4図に示す。これらの♀群は 25°C 温室内で同棲させた後、1群は18°C に移してから10日目に、他の1群は 18°C に7日間接触後 16°C に移してから5日目に、マウスから2日間に亘って毎日1時間宛吸血させ、その後の産卵状況を観察した。

これらの実験では各低温に接触させた日から籠内に2%砂糖水を滲ませた脱脂綿を吊るし、隔日に砂糖水を追加又は交換、自然死♀個体の除去及び吸血後の産卵数の測定を行なった。

18°C では♀50個体中49個体が吸血し、その後68日間に漸次死亡して行ったが、第3図に示すように、♀群の産卵は吸血後8日目からみられ15~20日頃に最多となり、その後不定期に僅かずつみられるが50日頃又多数の産下がみられる。このように産卵は42日に亘って間歇的且つ不定期に行なわれ、最後の多産は7♀の死の直前にみられる点、更には、これらの♀群は低温接触前既に受精していたと考えられるのに第3表に示すように1♀平均の産卵数は僅かに8.3個で、而もかなりの畸形卵(灰白色で、卵幅が狭く、凹縮した卵)が混在していたことなどから、18°C に接触中は、既に吸血♀体内での卵の発育は多少共抑制され、その産下もかなり障害されるものと考えられる。

16°C では♀50個体中42個体が吸血し、これらの生存日数は18°C の場合よりもかなり短かく、吸血後48日間に漸次死亡した。この間に第4図にみられるように吸血後14日目から32日目まで、少数ではあるが産卵が認められた。この場合にも 18°C と同様に少数の畸形卵が混在していた。

以上の両温度下での吸血と産卵についての観察結果

を比較すると第3表のように、吸血率は 18°C では 98%と極めて高く、16°C でも 84%と非常に良好な結果を得た。しかし吸血♀1個体当りの平均産卵数は両温度の間では著しい差があり、また吸血後産卵開始までの日数が 16°C では 18°C の約2倍を要し、産卵期間も遙かに短かい。このように 16°C は 18°C における場合に比較して著しく不適な低温であることが判る。

著者の実験では、既に述べたように 16°C において極めて低度ではあるが交尾し受精も行なわれ、普通に吸血し僅少の産卵もする結果を得たが、この温度がこれらの生理現象を強く抑制し或るいは阻害していることは充分推察される。18°C では受精率も高まり吸血もより旺盛となるが、卵の発育及び産下はあまりには好転しない。低温時における本種の吸血及び産卵については山田 (1916) は 17°C 以下では吸血せず、20°C 以下では産卵せずと云い、佐々 (1944) は 17°C 程度では吸血しても血液の消化が充分行なわれないため産卵することができないと報告している。これらの報告結果は著者のそれとはかなり異なるので今後尚精細な観察が必要であるが、16~18°C の低温度が以上の諸生理作用に及ぼす影響は本種の分布性を究明して行く上に極めて重要な資料を提供するものと考えられる。

胚の発育

産卵直後の卵を湿潤に保ちその後乾燥させておくことと長期間乾燥に耐えて生存し得ることは周知のことであるが、湿潤に保つ時間と耐乾性との関係を明らかにするためには予め胚の発育の時間的経過の大様を知る必要がある。このために 25°C と 20°C の各温度下で湿らせておいた卵の胚の発育経過を観察した。その結果は第4表に示すように 25°C では24時間以内には、著しい変化は殆んどみられない。48時間経過しても内容は透明となり、粘稠となるに過ぎないが、次の24時間の間には激しい変化がみられ、眼点が現われ体節が

Table 3 Feeding and egg laying of the females at 18 and 16°C

Rearing temp. °C	No. ♀ used	No. ♀ fed		Days to egg-laying	No. eggs laid		Period of laying eggs
		No.	%		Total	per ♀	
18	50	49	98.0	8	407	8.3	42
16	50	42	84.0	14	70	1.7	18

Table 4 Embryonal development of the eggs at 20°C and 25°C

Hours kept wet at 20°C	Embryonal development	Hours kept wet at 25°C
48	Yolk cells clearly visible	24
96	Yolk cells slightly visible, contents become mucous	48
120	Eye-spot visible, body segments faintly visible	72
144	Larvae nearly develop	
168	Larvae hatch out	96

Remarks : Eggs laid within 2 hours at $25.2 \pm 0.5^\circ\text{C}$ and 71–78% relative humidity were used for experiments. Some of them were kept wet at 25°C , and others were moved just after being laid to the room of $20 \pm 0.3^\circ\text{C}$ and kept wet

すかに形成され、やがてほぼ完全な幼虫体が形成される。96時間頃から幼虫の孵化がみられる。

20°C ではその発育は著しく遅れ 同い発育過程をたどるには 25°C における場合の大体 2 倍の時間を要するようである。

卵の耐乾性

25°C 以上の室温即ち夏季の高温時における本種卵の耐乾性を調べるために第 5 表に示すような湿潤時間とその後の乾燥期間との組合せにおける各処理卵群を水中に浸漬して孵化率を調べた。第 5 表に示す実験 (1), (2), 及び (3) は第 5 図の実線で示す各実験期間内に処理され、点線で示す期間内に卵群毎に水中に浸漬してその孵化率を調べた。その間の温度及び湿度条件は図に示す通りである。

実験 (1) は産卵後 12 及び 24 時間湿潤し、10–60 日間乾燥させたものであるが、12 時間の湿潤では乾燥期間は僅かに 10 日であっても幼虫は全く孵化しない。24 時間湿潤後乾燥させたものでは孵化率は非常に高く、60 日間乾燥させた場合でも尚高率に孵化がみられる。この実験から 12 時間程度湿潤させた場合には胚子はその後の乾燥中に死亡して、乾燥期間が短かくとも全く孵化し得ないものと考えられる。

実験 (2) は産卵後 24–72 時間湿潤し、30–140 日間乾燥させたものである。この場合には 24 時間以上湿潤させたためかその長短による孵化の著しい差は認められないが、72 時間湿らせた卵群の中 100 日以上乾燥させたものでは孵化がみられない。

乾燥期間の延長に伴って孵化率は当然のことながら低下するが、48 時間湿らせたものでは最長 120 日の乾燥に耐えて僅かではあるが孵化し得ている。この実験からは 24 時間以上 60 時間位湿らせたものが耐乾性が最も強いように思われる。

Fig. 5 The plan of dry-resistance test of the eggs in 1960 in Nagasaki City (For details cf. Table 5)

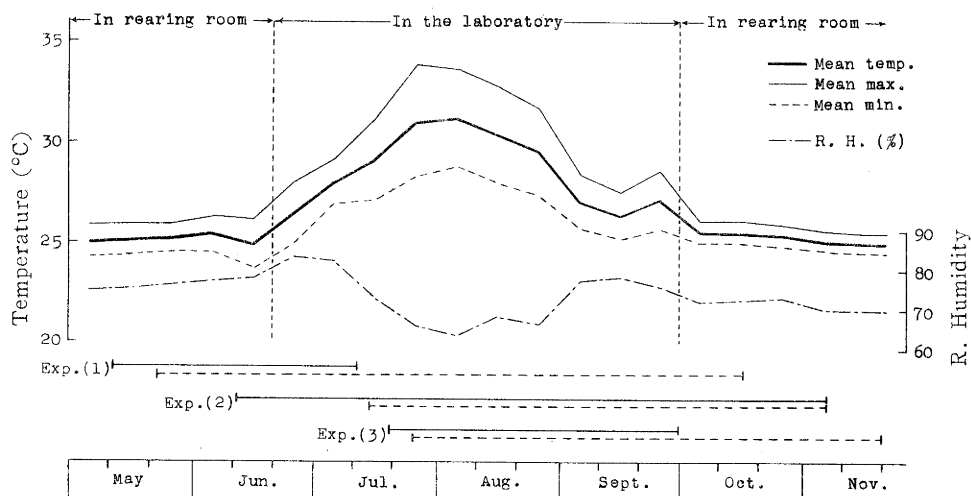


Table 5 Dry-resistance test of the eggs in 1960 in Nagasaki City, showing the percentage hatching of each 150 eggs, 3 batches of 50 eggs, which were kept wet for from 12 to 72 hours just after being laid within 2 hours, and thereafter kept dry for from 5 to 140 days, and then soaked in the water till the last one hatched out

Days kept dry Hours kept wet	5	10	20	30	40	50	60	70	80	100	120	140
12	72.0 ³⁾	0 ¹⁾	0 ¹⁾					0 ³⁾				
18	51.3 ³⁾							0.7 ³⁾				
24	71.3 ³⁾		75.0 ¹⁾	70.0 ¹⁾	57.3 ¹⁾	43.3 ¹⁾	57.3 ¹⁾	10.7 ³⁾	38.0 ²⁾			
30	83.3 ³⁾							19.3 ³⁾				
36	67.3 ³⁾			49.3 ²⁾	79.3 ²⁾		39.3 ²⁾	16.7 ³⁾	20.0 ²⁾	10.0 ²⁾		
42	70.7 ³⁾							38.0 ³⁾				
48	88.0 ³⁾				68.0 ²⁾		32.0 ²⁾	24.0 ³⁾	10.0 ²⁾	10.7 ²⁾	0.7 ²⁾	
54	73.3 ³⁾							15.0 ³⁾				
60	85.3 ³⁾				62.0 ²⁾		44.7 ²⁾	28.0 ³⁾	4.0 ²⁾	0.7 ²⁾	0 ²⁾	
66	84.7 ³⁾							27.3 ³⁾				
72	80.0 ³⁾				54.0 ²⁾		22.0 ²⁾	46.0 ³⁾	18.7 ²⁾	0 ²⁾	0 ²⁾	0 ²⁾

Remarks : Experiments 1), 2), and 3) were started with the eggs laid on May 11, June 12-16, and July 19-22, 1960 under the air conditions shown in Fig. 5. In each Exp., the period covering from the day of the eggs being kept wet to the day of drying the last batch of eggs is shown in full line, and the period covering from the day of soaking the first batch in the water to the day of the last hatching out of larvae is in broken line. The above experiments were carried out under the air conditions as illustrated in Fig. 5

Fig. 6 The results of the Experiment (3) shown in Fig. 5 and Table 5, showing the percentage hatching and mean period of the eggs after their being soaked in the water

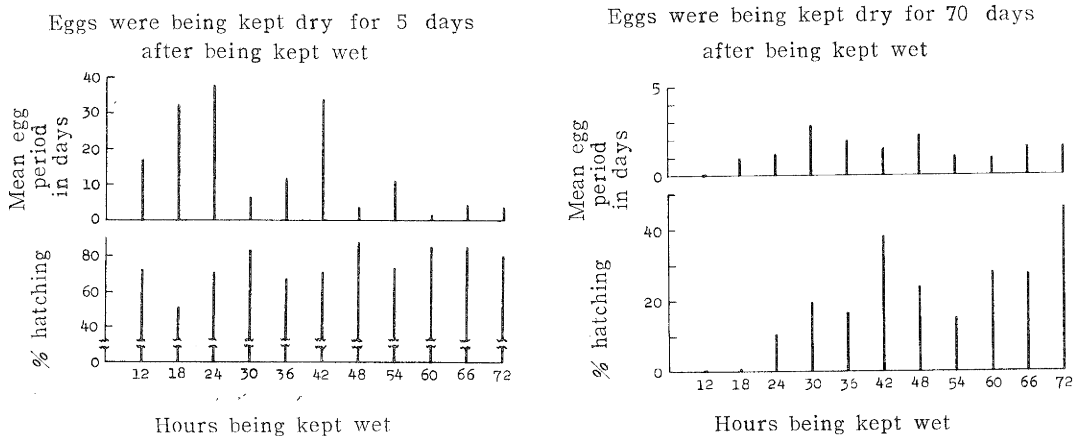
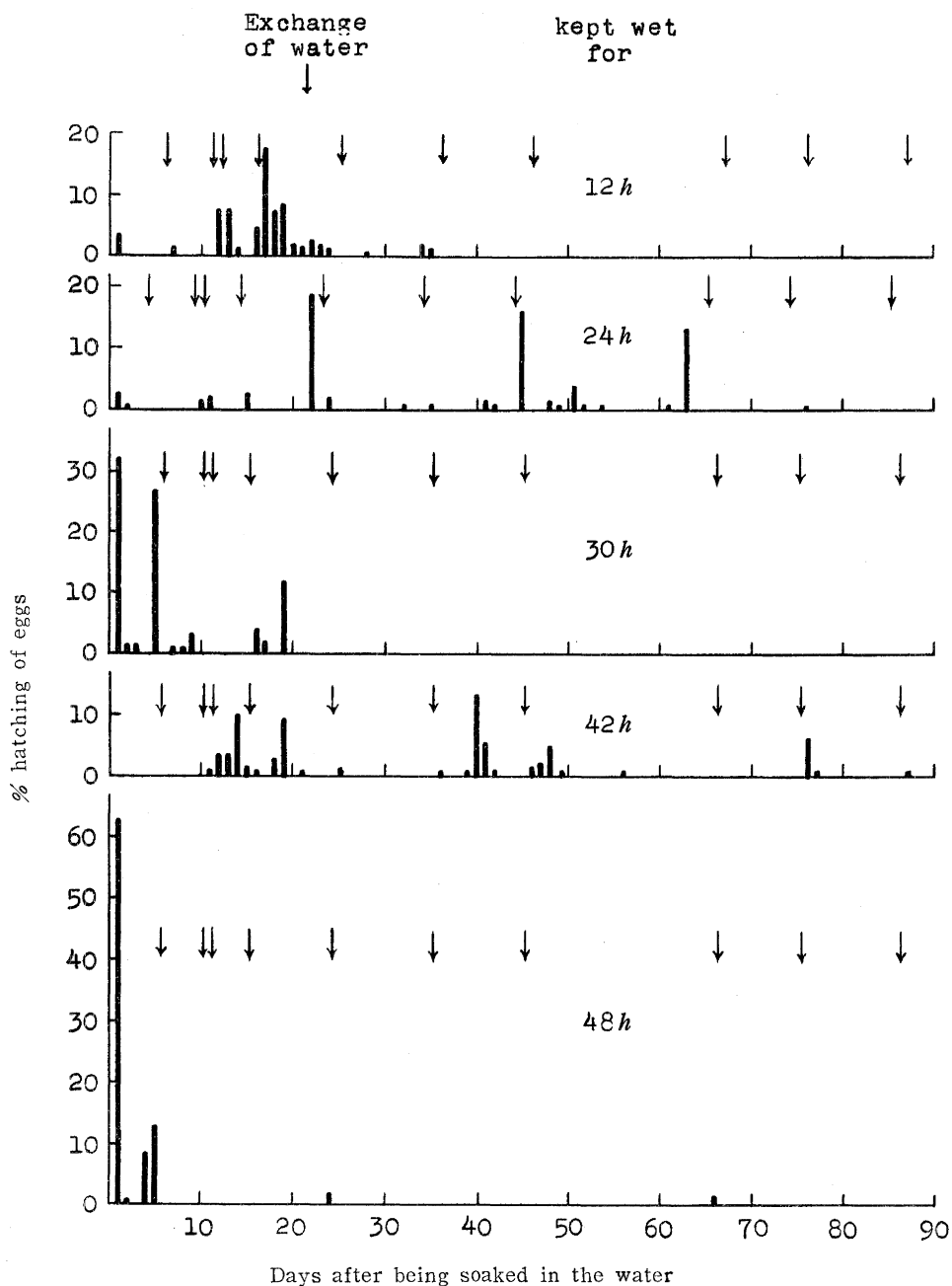


Fig. 7 The results of dairy observations on the percentage hatchings of the larvae against the respective 150 eggs after their being soaked in the water with some cases among the Exp. (3) shown in Table 5, Fig.5, and Fig.6, in which eggs were kept wet for the indicated hours and then kept dry for 5 days.



実験(3)は6時間々隔で12~72時間湿潤し、その後5及び70日間乾燥したものである。5日間乾燥したものでは湿潤時間には特に関係なく何れもほぼ良好な孵化を示している。先に述べた実験(1)では12時間湿潤した卵を10日乾燥して孵化しなかったが、この実験では5日間の乾燥で72%が孵化しており、胚の極めて未熟な卵でも5日程度の乾燥では死滅せずにその後の浸水中に再び発育を続けて孵化するものと考えられる。70日乾燥した場合には5日間乾燥したものにと比べるとどの卵群も孵化率は甚だしく低下する。湿潤時間別に孵化率をみると、12時間では勿論孵化しなかったが18時間湿潤したものでは極く少数ではあるが孵化している。24時間以上湿潤した場合には各卵群間で孵化率にはあまり差はないようである。

実験(1)~(3)を通覧すると、25~31°C、相対湿度

67~87%の夏季の高温下では孵化直前迄湿潤した卵よりも、24時間以上60時間程度湿潤した卵の方がより長期間乾燥に耐え、2ヵ月半程度の乾燥では尚かなりの孵化が可能であることが判る。24時間未満の湿潤の場合には、乾燥期間が極端に短い場合を除いて、乾燥中に殆んど死滅するように思われる。

以上、湿潤時間と乾燥期間の異なった組合せで処理した卵群の孵化率について述べたが、それぞれの場合における孵化状況即ち時間的消長は必ずしも一様ではない。この状態を示すために第6図に実験(3)の、5日(左図)及び70日(右図)乾燥させたものについて各卵群毎の孵化率及び平均孵化日数を図示した。孵化率は第5表にも示されている通りであるが、その時の平均孵化日数は水に漬けた直後或いは比較的早く、同時に孵化する場合には小となり、長期に亘ってばつばつ孵化する場合には大となる。

今、図についてみると5日間乾燥区では42時間乾燥群迄のものは例外はあるが非常に大であって、48時間群以後のものは小である。いくつかの例について毎日の孵化数と水の交換状況を示すと第7図のように、夫々多少ずつ異なっているが、24時間区及び42時間区のように非常に長期間に亘って少しずつ孵化して行くもの、12時間区のように水に漬けて2週間後位から10日間位の間に一過性の山を描いて孵化するもの、30時間区のように直後に多く間歇的に20日間位の間に孵化するもの、及び48時間区のように直後の数日間に殆んど孵化しその後非常に遅れて極く少数のものが孵化するものなどがある。概して云えば、乾燥期間が短い時は、湿潤時間が短かければ孵化期間が長くなり、充分湿潤したものは一斉に孵化する傾向があるようにみえる。

所が70日乾燥した場合には、胚の発育の極く初期のものは死亡し或いは孵化率が悪く、適当に或いは充分湿潤したものはかなりの孵化率を示すが、孵化するものは第8図に示すように大体において一斉に孵化している。これらの結果から高温時には、胚が或る程度発育する迄湿潤したものでは一斉に孵化する傾向があると考えてもよいように思われる。

次に低温環境下で処理した卵の孵化状況を見るために、夏季室内で2時間以内に産卵させた卵群を直後から18°C恒温室に移し、24~192時間湿潤させた後10日間乾燥させてみると、第9図に示すように、24時間区では全く孵化しないが48~192時間区ではかなり高率に孵化している。所がこの場合には何れも約3ヵ月もの長期間に亘って孵化がみられる(第10図)。この

Fig. 8 The results of dairy observations on the percentage hatchings of the larvae against the respective 150 eggs after their being soaked in the water with some cases, in which the eggs were kept wet for 24, 48, and 72 hours and then kept dry for 70 days, among the Exp. (3) shown in Table 5, Fig. 5, and Fig. 6

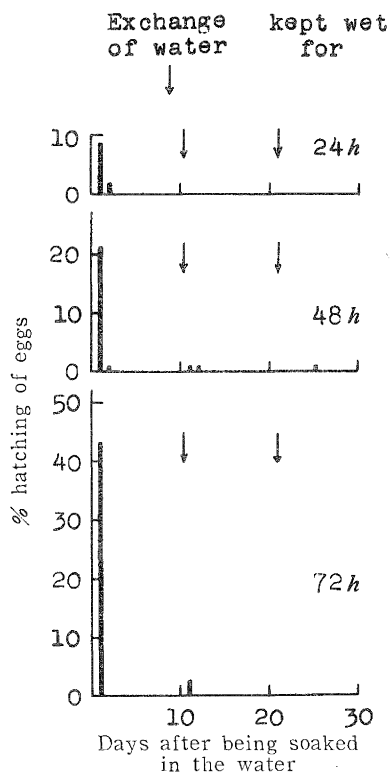


Fig. 9 Percentage hatching and mean egg period in days of the eggs kept wet and dry at 18°C and then soaked in the water. Eggs laid within 2 hours in a room of $29.4 \pm 2.2^\circ\text{C}$ and 71–76% relative humidity were moved in a $18 \pm 0.3^\circ\text{C}$ and 71–79% r. h. room and kept wet for from 24 to 192 hours, and thereafter kept dry for 10 days, and then soaked in the water at room temperatures varying from 31.2 to 25°C till the last one hatched out

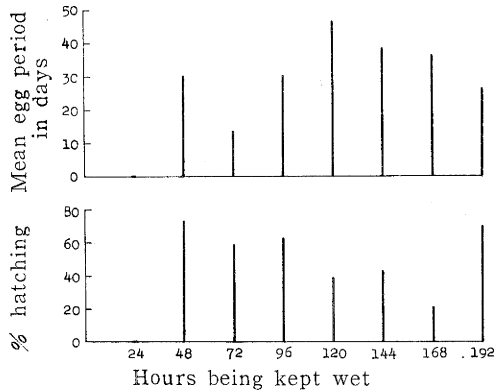
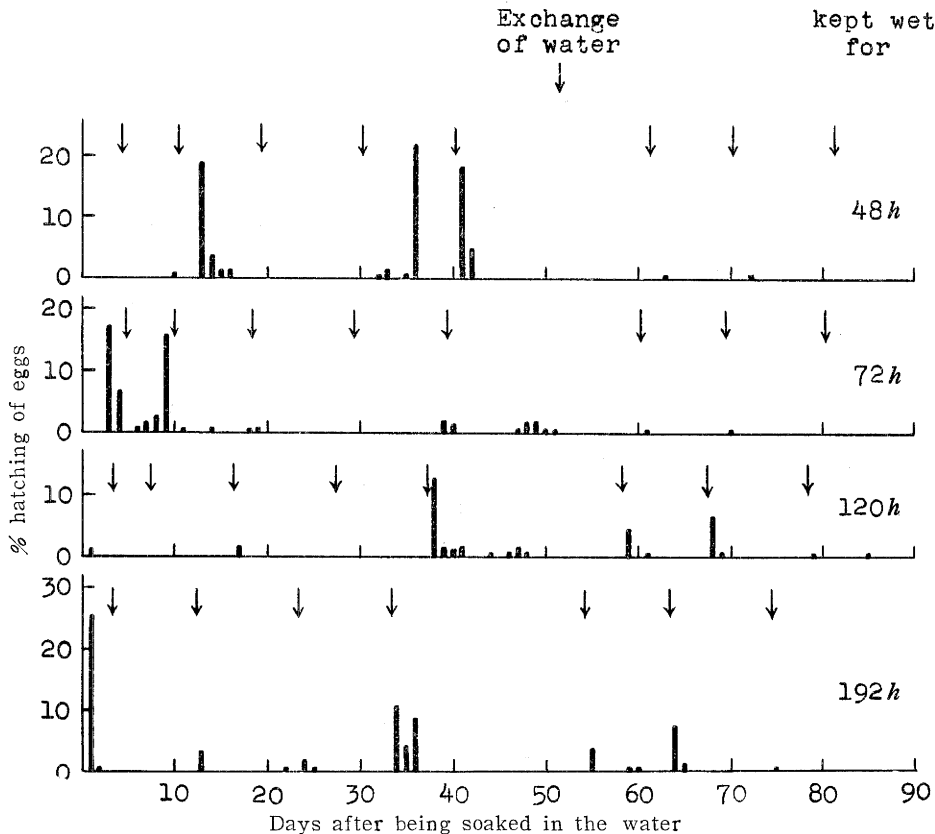


Fig. 10 The results of daily observations on the percentage hatchings of the larvae against the respective 150 eggs after their being soaked in the water with some cases among those shown in Fig. 9



成績から低温で処理した場合には、孵化期間が一般に延長するのではあるまいか。

間歇的或いは不定期な孵化がみられる場合に、これを促進させる刺激として、水の交換、或るいは只単に、水の交換による機械的な攪乱が、なにがしかの役割を演じていると考えられる場合が可成りにあることは興味がある。

幼虫の發育

常に一定の健康度の各發育期の材料を大量に得るための Mass rearing の一環として幼虫の飼育予備実験を重ね、容器の形、大きさ、水量、幼虫の個体数及び餌の量を色々に吟味して第6表に示すような孵化率及び羽化率の極めて高い飼育法を確定し得た。この方法は大量に幼虫を飼育する場合には最も適していると思われたので本実験並びにその後の実験の際に広く採用している。

次に、実験室内の自然温度下で5～9月の間に、12時間以内に孵化した幼虫夫々20個体宛くり返し5回、

Table 6 The rates of development of the immature mosquitoes in mass rearing of *Aedes aegypti* at 25°C in 1961

Repetition	No. larvae	No. pupated	% pupation	No. emerged	% emergence	
					to larvae	to pupae
1	502	486	96.8	463	92.2	95.3
2	505	499	98.8	481	95.2	96.4
3	529	522	98.7	500	94.5	95.8
Total	1536	1507	98.1	1444	94.0	95.8

Remarks : In each experiment, about 500 larvae hatched out within 12 hours at 25°C were reared in a enameled dish of 20×27cm by 4cm deep with 800cc tap water or 1.6cc per larva. Ebios (a sort of brewer yeast) was given as food every 2 days after the exchange of water at a certain rate depending as the growth of larvae. A total amount of Ebios came to 5.1–7.1mg for one larva through its whole larval period

Table 7 Developmental periods and the rates of development of the immature stages of *Aedes aegypti* under the laboratory conditions in 1960 and 1961

Exp. period	Mean tem. °C			Larval period in days	Larval + pupal period in days		% pupation	% emergence		Sex ratio (♀:♂)
	Mean	Max.	Min.		♀	♂		to larvae	to pupae	
May 6–21 1961	22.1	22.9	21.2	9.3	12.5	11.7	98.0	93.9	95.9	1:1.2
Jun. 5–19 1961	24.1	24.8	23.4	7.8	10.9	10.1	100.0	98.0	98.0	1:1.5
Jun. 18–30 1960	25.3	27.1	23.4	7.7	10.1	9.8	96.0	94.0	97.9	1:1.5
Jul. 14–21 1961	31.4	32.2	30.6	5.0	6.6	6.2	97.0	91.0	93.8	1:1.2
Aug. 18–26 1960	29.9	32.2	27.5	5.2	7.4	7.0	99.0	92.0	92.9	1:1.2
Sept. 6–18 1960	25.2	26.6	23.8	7.3	9.8	9.3	100.0	94.0	94.0	1:0.7

Remarks : In each experiment, each batch of 20 larvae of 5 batches hatched out within 12 hours at 25°C or in the laboratory in Summer were reared in a dish of 8.5cm in diam. and 5.0cm high with 80cc tap water or 4cc per larva. As a food substance, Ebios was added every day after the exchange of water at the rates of 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0mg per one of the I, II, III, and IV instar larvae respectively, that is 11.5–12.0mg Ebios was given for one larva through its whole larval period

計 100個体を用いて飼育実験を行なった成績を第7表に示す。幼虫期間は気温が高くなるに従って短くなり、気温が最も高い7月中旬(30.6~32.2°C)には5日、幼虫+蛹期間は♀で6.6、♂では6.2日で最短を示した。また実験中の気温の平均が最も低かった5月

(21.2~22.9°C)には夫々かなり延長して7月の場合の2倍近くを要している。蛹化率及び羽化率は何れも極めて高く、夫々 96~100%及び91~98%を示した。

性比についてみると、9月の場合を除けば、すべての場合に♂が多く、特に6月には2回の実験とも♂が

非常に多く出ているが、このことは本種の場合に一般的に見られる現象であることは多くの研究者の一致した意見である。

総 括

1) ネットタイシマカの日本における土着の可能性を実験的に検討しようと試み、一連の研究を行なって来た。その中、基礎実験として、♀成虫の受精及び吸血と産卵、卵の湿潤及び乾燥期間と孵化率及び産卵期間との関係、並びに幼虫の飼育温度と発育期間等について調べた結果をここに報告する。本実験で使用したネットタイシマカは昭和32年に採集されその後日本で累代飼育を続けているバンコック産のものである。

2) ♀成虫の受精率を 25°C、18°C、及び 16°C に於いて調べるために、25°C の温室内で 2 日以内に ♀を別に羽化させた成虫を、夫々の温度に接触させ、直後ないし数日後に ♀を夫々数十個体宛を同棲させて受精状況を観察した。

受精率は 25°C では極めて高く、18°C では、これよりやや低い程度であるが、16°C では極めて低くなる。個体別に 3 個の受精囊について精子の保有状況をみると、温度によって著しい差が認められる。25°C では 3/3 受精 ♀が同棲直後から少数ながら発見され、日の経過に伴ってそれが増加する傾向が明瞭である。18°C では大多数の受精 ♀は 2/3 で、3/3 受精 ♀は同棲の 39 日以後に現われ、しかもその内の 1 個の受精囊には精子が極めて少ないのが常である。0/3 又は 1/3 受精の状態で死亡している ♀も多少はみられる。16°C では僅かに受精した数個体はすべて 1/3 又は 2/3 受精で精子の量も極めて少ない。以上のことから、受精率は飼育温度が 18°C より低下すると急激に低下して行くことが窺われる。

3) 18°C 及び 16°C の低温度に接触中の ♀の吸血と産卵状態を調べるために 25°C で羽化、交尾させた 50 個体の ♀を、18°C では接触後 10 日目に、16°C では、18°C に 7 日接触後 16°C に移して 5 日目に、夫々 2 日間連続してマウスから吸血させた。吸血率は 18°C では極めて高く、16°C でもかなり高い。吸血後産卵までの期間は 18°C で短かく、16°C では著しく長くなる。産卵期間は 18°C で非常に長く、産卵は不定期且つ間歇的に行なわれ、産卵数はかなり多い。16°C では産卵期間が短かく、卵数も極めて少ない。以上のように、吸血は 16°C でもかなり活発に行なわれるが、卵の発育及び産下は 18°C において既にかなり抑制或るいは阻害されるように思われる。

4) 胚の発育状況を、25°C 及び 20°C に接触中の卵群についてみると、25°C では、24 時間までは殆んど変化なく、48 時間後にはやや粘稠度を増して透明となり、その後 72 時間までの間に急速に発育して 72 時間後にはほぼ幼虫の完全な形態が認められる。最初の孵化は 92 時間後にみられる。20°C では以上の発育程度を経過するのにほぼ 2 倍の時間が必要である。

5) 卵の耐乾性については 25°C 以上の室温（第 5 図参照）で 2 時間以内に産出された卵を 12~72 時間湿潤し、5~140 日間空気中で乾燥し、水に浸して孵化させた実験と、産卵後 18°C で 24~192 時間湿潤し 10 日間乾燥した卵を孵化させた実験とを行なった。

25°C 以上の室温で 5 日間乾燥した時の孵化率は、湿潤時間の長短とは殆んど無関係にかなり高いが、孵化期間は胚の発育程度によって差がみられ、短時間湿潤したものでは長く、長時間湿潤したものでは短かい傾向がある。

70 日間乾燥した場合は、18 時間以下の湿潤では著しい悪影響を受けるが、30 時間以上湿潤すれば湿潤時間には殆んど関係なくかなりの孵化がみられる。この場合の孵化期間は何れも短かく、ほぼ一斉に孵化してしまう。

18°C では 24 時間湿潤では孵化せず、48 時間以上湿潤すれば湿潤時間には無関係にかなり高率に孵化し、孵化期間は何れも長い。

これらの結果を総合すると、夏季高温下では卵は、極めて僅少ではあるが、最長約 4 カ月間生存し、24~60 時間程度湿潤した、胚の発育程度の比較的若いもの或るいはかなり発育した程度のものがより大きい耐乾性を持つように思われる。又、湿潤時間が長い場合、或るいは長期間乾燥した場合には孵化期間が短かくほぼ一斉に孵化し、湿潤時間が短い場合、或るいは低温で湿潤、乾燥した場合には孵化期間が長く少数ずつぼつぼつと孵化する傾向が認められる。

6) 幼虫の大量飼育法として、25°C で 20×27cm、深さ 4cm のバットに水約 800cc、12 時間以内に孵化した幼虫約 500 個体を入れ、エビオスを、全幼虫期間中 1 個体当たり 5.1~7.1mg 与えて飼育する方法を確立して極めて高い蛹化率及び羽化率を得た（第 6 表）。

幼虫及び蛹の発育期間、蛹化率、羽化率及び性比等を、5~9 月の自然温度下で、6 回に亘り、エビオスを餌として 20 個体を 1 群とし、夫々 5 群ずつについて飼育試験を行ない次の成績を得た。夏期の最高室温下では幼虫期間が 5 日、幼虫+蛹の期間が ♀で 6.6 日、

♂で6.2日, 5月には夫々約2倍の日数を要した。蛹化率, 羽化率は各回を通じて96%以上及び91~98%

を示した。♂の比率は明らかに♀のそれよりも大である。

文 献

- 1) **Burgess, L.** : Techniques to give better hatches of the eggs of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). Mosquito News, 19 (4) : 256-259, 1959.
- 2) **Christophers, S. R.** : *Aedes aegypti* (L.) The Yellow Fever Mosquito: Its Life History, Bionomics and Structure. Cambridge at the University Press. 739pp, 1960.
- 3) **中田五一** : 冬季本邦に於て飼育したネツタイシマカ *Aedes aegypti* Linn. の吸血, 産卵, 孵化に就て。京都帝国大学理学部動物学教室。大津臨湖実験所生理・生態学研究業績, 62 : 1-13, 1946.
- 4) **小栗一好, 小林和夫** : 牛深町に於ける熱帯縞蚊の越冬調査。熊本医科大学衛生学教室研究報告 : 83~90, 1947.
- 5) **小栗一好, 小林和夫** : 熱帯縞蚊の牛深町(熊本県天草郡)棲息に就いて。日本衛生学雑誌 2 (3) : 13-16, 1948.
- 6) **大森南三郎** : 黄熱媒介蚊調査の手引。厚生省公衆衛生局検疫課 : 8pp, 1957.
- 7) **佐々 学** : ネツタイシマカに関する研究。海軍々医会誌, 33 (10) : 1084-1086, 1944.
- 8) **佐々 学, 浅沼 靖** : 蚊を調べる人の為に。初版, 東京, 1948.
- 9) **佐々 学** : 日本における黄熱媒介蚊の諸問題。衛生動物, 9 (3) : 111-115, 1958.
- 10) **Smith, W. W. & Love, G. J.** : Winter and spring survival of *Aedes aegypti* in southwestern Georgia. Amer. J. trop. Med. Hyg., 7 (3) : 309-311, 1958.
- 11) **Wallis, R. C. & Lang, C. A.** : Egg formation and oviposition in blood-fed *Aedes aegypti* L. Mosquito News, 16 (4) : 283-286, 1956.
- 12) **山田 学, 伊熊健治, 大島正満** : 本邦内地ニ於ケルねつたいしまかの発見ニ就テ。軍医団雑誌, 359 : 397-398, 1943.
- 13) **山田信一郎** : 黄熱病ノ伝搬者タル「ステゴミーア・ファスシアータ」ノ本邦ニ於ケル分布ニ就テ。衛生学伝染病学雑誌, 12 (5) : 386-403, 1910.
- 14) **山田信一郎** : 「ステゴミーア・ファスシアータ」ノ本邦ニ於ケル分布ニ就テノ追加。衛生学伝染病学雑誌, 13 (2) : 1-2, 1917.
- 15) **Yamaguti, S. & La Casse, W. J.** : Mosquito fauna of Japan and Korea. p. 104-109, Office of Surgeon, HQ 8th Army, 1950.

Summary

1) To examine the possibility of establishment of *Aedes aegypti* (L.) in Japan, some experiments were projected. Reported here are the results of fundamental experiments carried out at different temperatures on the fertility, feeding, and oviposition of the female, the hatching out of the egg having been kept wet and then kept dry for different periods of time, and also on the development of the larva.

The mosquito used had been originated from Bangkok, Thailand by Dr. M. Sasa, 1957.

2) The examinations were made at different temperatures on the fertility of the females which were emerged separately from the males at 25°C within two days and paired by batch, at 25°C just after; 5 days after the sexes having been kept at 18°C; and at 16°C 5 days later the sexes having been kept through 18°C for 5 days; respectively.

The percentage fertility was very high at 25°C, a little less at 18°C, while, much less at 16°C (Table 2). The amounts of spermatozoa found in the three spermathecae were much

different with the decrease in temperature: At 25°C (Table 1) some females had all three spermathecae with full of spermatozoa just after the pairing and such females increased in number with the prolongation in days of cohabitation of sexes; at 18°C (Fig. 1) many females had only one or two of them with less full of spermatozoa and the females having three spermathecae with spermatozoa, though one of which with scanty ones, were not appeared untill 39 days after the pairing; at 16°C (Fig. 2) a few females only had a little amounts in one or two spermathecae throughout the duration their being kept at the temperature.

3) Feeding and oviposition were examined at 18°C (Fig. 3) and 16°C (Fig. 4) with the female which were emerged and copulated at 25°C and kept by batch at 18°C for ten days, and at 18°C for 7 days and then at 16°C for 5 days, respectively, before they were allowed to feed on mice for successive two days at each temperature. At 16°C the percentage feeding was only slightly lower, while, the states in the preoviposition period, the number of eggs per female fed, and the egg laying period were much inferior to those of the female kept at 18°C (Table 3).

4) The embryonal development of the eggs was examined at 25°C and 20°C. The embryo develops at 25°C nearly two times as quickly as at 20°C, showing no apparent changes in contents within 24 hours, becoming somewhat mucous by the end of 48 hours, and changing into larval from by the end of 72 hours (Table 4).

5) The percentage hatchings (Table 5) were examined under the temperature conditions above 25°C (Fig. 5) with the eggs which were kept wet for different hours and then kept dry for different periods before they were soaked in the water. When kept dry in the air for only a short period as 5 days the percentage hatchings are fairly high irrespectively of hours having been kept wet, but the ranges in days of hatching are generally longer in short term moistened groups and shorter in long term ones (Fig. 6, left, and Fig. 7). When kept dry for 70 days, the eggs moistened under 24 hours slightly or scarcely hatch out probably because of the death of undeveloped embryos during the drying, but those moistened for 30 hours or more can hatch out in some percentages and interesting to say, the survived eggs can hatch out nearly simultaneously (Fig. 6, right, and Fig. 8).

Under a low temperature (18°C) condition, eggs moistened for 24 hours can not survive 10 days dryness but when they were moistened 48 hours or more can hatch out in nearly the same level in percentage and in the ranges in days of hatching (Fig. 9 and 10).

As above, it is of interest that the eggs having been kept wet for 24–60 hours appear to be more dry-resistant under the high summer temperature conditions surviving the dryness for as long as 120 days in an extreme case, and that when the moistened periods are longer, or when the periods exposed to the dryness are longer, eggs can hatch out nearly simultaneously, while, on the contrary, they hatch out little by little during long periods when the moistened periods are shorter or when they are treated at the lower temperature.

6) A method of the mass rearing of the larvae is given (Table 6). By the method very much high percentage pupation and also very high percentage emergence are obtained, and by which all the adult mosquitoes have been obtained which were used in the experiments reported hereupon.

Another method of rearing 20 individuals as a batch is devised to examine the developmental

periods of immature mosquitoes, the percentages of pupation and emergence, and the ratios of sexes under natural temperature conditions from May through September, with very satisfactory results (Table 7).

Received for publication September 10, 1963.